

学校编码: 10384
学号: 20720141150126

分类号_____密级_____
UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

量子点及量子点/聚苯乙烯荧光微球的制备
及其用于降钙素原快速免疫检测的研究

Preparation of Quantum Dots and Quantum Dots/
Polystyrene Fluorescent Microspheres and Its Application in
Rapid Immunodetection of Procalcitonin

文 凯

指导教师姓名: 任磊 教授
专 业 名 称: 材料工程
论文提交日期: 2017 年 4 月
论文答辩时间: 2017 年 5 月
学位授予日期: 2017 年 月

答辩委员会主席: _____
评 阅 人: _____

2017 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

量子点作为一种新型的荧光材料具有独特的光学性质,如具有宽的紫外可见吸收光谱和窄而对称的荧光发射光谱,且具有较高的量子产率。这些特性赋予了量子点广阔的应用空间和前景。但是量子点的尺寸小,单个量子点荧光强度有限,用于生物标记时暴露在复杂的生理环境中,容易破坏量子点的荧光稳定性。所以将量子点包载在聚合物微球中形成量子点荧光微球。量子点荧光微球既能提高单个微球的荧光强度,而且易修饰,便于与生物大分子结合,非常适合生物荧光标记方面的应用。降钙素原(PCT)作为人体辅助判断真菌、细菌的感染程度的重要指标,对于感染性疾病及其并发症的早期诊断、及时治疗的临床判断尤其重要。而现在常见检测PCT的方法不是无法定量就是价格昂贵,不利于PCT检测在基层社区医院的推广。荧光免疫层析法具有快速定量、灵敏度高及操作简便等优点,随着荧光免疫层析检测PCT的深入研究,为预防和治疗感染性疾病提供便利。所以发展快速定量和操作简便的荧光免疫层析检测PCT具有重大意义。

本文旨在合成高量子产率的CdSe/CdS核壳量子点。为了提高其在聚苯乙烯微球(PS)中的包载效果,使用正十二烷基硫醇(DDeT)对量子点配体交换改性,得到了新型的量子点/聚苯乙烯荧光微球。并且经PAH和PSS聚电解质修饰后制备荧光标记PCT抗体探针,用于荧光免疫层析快速且高效的检测PCT。本文具体工作主要分为以下三个方面:

1. 通过热注入法制备CdSe量子点,经过原位提纯后,再通过热循环单体耦合法(TC-SP)制备高效发光的CdSe/CdS核壳量子点。通过紫外可见光谱、荧光发射光谱、透射电镜和X衍射等仪器表征CdSe和CdSe/CdS量子点的结构和光学性能。实验结果表明CdSe成功外延生长CdS壳层,所制备的CdSe和CdSe/CdS量子点都是面心立方的闪锌矿型结构,具有较高的量子产率和尺寸均一性。通过正十二烷基硫醇(DDeT)交换CdSe/CdS量子点的油胺(OAm)配体,配体交换后量子点的光学性质不变,溶解度得到大幅度提高,对后续制备荧光微球产生积极影响。

2. 通过乳液聚合方法成功将配体交换后的CdSe/CdS量子点包载到聚苯乙

烯微球中，得到了量子点/聚苯乙烯荧光微球。结果表明包载于微球内部的量子点分布较均匀，而且具有较高的包载效率。乳液聚合成功将油相量子点成功转移在水相中，微球依然保持窄而对称的荧光发射光谱，并且荧光发射光谱的位置不变，同时证明了配体交换后量子点的包载效果更好。

3. 量子点/聚苯乙烯荧光微球成功修饰 PAH 和 PSS 聚电解质，与抗降钙素原单克隆抗体结合，制备荧光标记抗体探针。构建了荧光免疫层析试纸条，并对试纸条进行了优化和性能评价，通过荧光免疫分析仪可以快速灵敏定量检测 PCT，具有极大的应用潜力。

关键词：量子点；荧光微球；荧光免疫层析；降钙素原

Abstract

Quantum dots are a new type of fluorescent material with unique optical properties such as broad UV-Vis absorption peaks, narrow but symmetrical fluorescence emission peaks and high fluorescence intensity. These excellent properties make quantum dots have broad application and prospects. However, limited by the small size of quantum dot, single quantum dot exhibits low fluorescence intensity. It is used in biomarkers when exposed to complex physiological conditions, easily destroying the fluorescence stability of quantum dots. So the quantum dots are loaded in the polymer microspheres to form quantum dot fluorescent microspheres.. The synthesized quantum dots fluorescent microspheres can not only improve the fluorescence intensity of single microspheres but also easy to modify for bio-fluorescence labeling applications. As an important indicator to fungi, bacterial infection in the human body, procalcitonin (PCT) is of great importance for the clinical diagnosis of early diagnosis and timely treatment of infectious diseases. However, the common method for detection of PCT is neither quantification nor cheap, leading to a difficult promotion for PCT test in the grassroots community hospital. Fluorescence immunochromatography has the advantages of rapid quantification, high sensitivity and easy operation. With development of the fluorescence immunochromatography in detection of PCT, it will facilitate the prevention and treatment of infectious diseases. Therefore, it is of great significance to. develop a method with rapid quantification and easy operation of fluorescent immunochromatographic detection of PCT.

This paper aims to synthesize CdSe/CdS core-shell quantum dots with high quantum yield. In order to improve the embedding efficiency of CdSe/CdS quantum dots in polystyrene microspheres (PS), the 1-dodecanethiol (DDeT) was used to exchange ligands of quantum dot to obtain novel quantum dot/polystyrene fluorescent microspheres. And fluorescent microspheres were modified with PAH and PSS polyelectrolyte to prepare fluorescent labeled with PCT antibody probes, and used for fluorescence immunochromatography to detect PCT quickly and efficiently. The work

in this paper is divided into the following three aspects:

1. CdSe quantum dots were prepared by thermal injection method and then adopted in situ purification. The CdSe/CdS core-shell quantum dots with high quantum yield were prepared by the thermal cycle single precursor coupling method (TC-SP). The structure and optical properties of CdSe and CdSe/CdS quantum dots were characterized by UV-Vis, fluorescence emission, transmission electron microscopy and X-ray diffraction. The experimental results show that CdSe was successfully epitaxial growth on the surface of CdS. The prepared CdSe and CdSe/CdS quantum dots are face-centered cubic zinc-blende structure, which has a uniform size with high quantum yields. By exchanging the oleyl amine (OAm) ligands with DDeT, the optical properties of the quantum dots showed little change, and the solubility had been greatly improved, which had a positive effect on the subsequent preparation of fluorescent microspheres.

2. Through the method of emulsion polymerization, the CdSe/CdS quantum dots were successfully loaded into polystyrene microspheres. It was found that the quantum dots distributed inside the microspheres were more homogeneous and had higher packing efficiency. The emulsion polymerization method successfully transferred the oil phase quantum dots to the aqueous phase, Fluorescent microspheres still remain narrow and symmetrical fluorescence emission spectra, and the fluorescence emission spectra of the peak position show no change. It is also proved that the embedding efficiency of quantum dots is higher after ligand exchange.

3. Fluorescent microspheres successfully modified with PAH and PSS polyelectrolytes. Fluorescence-labeled antibody probes were prepared by binding fluorescent microspheres to anti-procalcitonin monoclonal antibodies. The fluorescence immunoassay test strips were constructed and the test strips has been optimized and evaluated. It showed a great potential application for rapidly quantitative detection of PCT by fluorescence immunoassay device.

Key words: quantum dots; fluorescent microspheres; fluorescence immunochromatography; procalcitonin

目录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	V
Contents	III
第一章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 量子点	1
1.3 量子点荧光微球	7
1.4 荧光免疫层析检测技术	13
1.5 本论文的研究内容和意义	14
参考文献	16
第二章 CdSe/CdS 的制备与表征.....	22
2.1 引言	22
2.2 实验材料与仪器	22
2.3 实验方法	24
2.4 实验结果与讨论	29
2.5 本章小结	36
参考文献	38
第三章 CdSe/CdS@PS 的制备与表征	40
3.1 引言	40
3.2 实验材料与仪器	41
3.3 实验方法	42
3.4 实验结果与讨论	45
3.5 本章小结	50

参考文献	51
第四章 CdSe/CdS@PS 的荧光免疫层析检测 PCT 应用	54
4.1 引言	54
4.2 实验材料和仪器	55
4.3 实验方法	57
4.4 实验结果与讨论	61
4.5 本章小结	68
参考文献:.....	70
第五章 结论与展望	72
5.1 全文结论	72
5.2 展望	73
硕士期间发表论文	74
致谢.....	75

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	III
Contents in Chinese	V
Contents in English	VII
Chapter 1 Reviews	1
1.1 Introduction	1
1.2 Quantum Dots	1
1.3 Quantum dots fluorescent microsphere	7
1.4 Immunochromatographic detection technology	13
1.5 Proposal and content of this study	14
References	16
Chapter 2 Preparation and characterization of CdSe/CdS	22
2.1 Introduction	22
2.2 Materials and instruments	22
2.3 Experimental methods	24
2.4 Results and discussion	29
2.5 Conclusions	36
References	38
Chapter 3 Preparation and characterization of CdSe/CdS@PS	40
3.1 Introduction	40
3.2 Materials and instruments	41
3.3 Experimental methods	42
3.4 Results and discussion	45
3.5 Conclusions	50

References	51
Chapter 4 Fluorescence immunochromatographic of PCT detection by CdSe/CdS@PS	54
4.1 Introduction.....	54
4.2 Materials and instruments	55
4.3 Experimental methods.....	57
4.4 Results and discussion	61
4.5 Conclusions.....	68
References.....	70
Chapter 5 Summary and future works.....	72
5.1 Summary.....	72
5.2 future works	73
Publications	74
Acknowledgements	75

第一章 绪论

1.1 引言

纳米材料的尺寸范围一般为 1-100 nm。它处于原子簇和体相结构之间的过渡区。因此,纳米材料具有不同于体相物体结构的特点,如小尺寸效应、表面效应和量子限域效应等物理与化学性质,从而显示出不同于传统的体相材料的化学、热学、光学、磁学等方面的性质^[1]。

量子点具有宽的紫外可见吸收峰和窄而对称的荧光发射峰,且具有较高的荧光强度和较强的抗光氧化等特点,使得这些特性赋予了量子点更加广阔的应用空间和前景,能够克服传统荧光材料(如有机染料、荧光蛋白等)的荧光信号不稳定、制备条件苛刻、瞬时荧光干扰等问题,与传统荧光材料相比具有更优越的性能^[2-5],在发光二极管^[6-8]、激光^[9,10]、太阳能电池^[11-13]、生物传感器^[14,15]等领域中飞速的发展,特别是在生物领域,是一种极具潜力的荧光标记制备物^[16,17]。

但是量子点自身尺寸小、单个量子点荧光强度有限,用于生物标记时容易暴露在复杂的生理环境中,使得荧光的稳定性受到严峻考验。量子点荧光微球是将大量量子点装载或悬挂到微球内部或表面形成的微球,提高单个微球的荧光强度。此外,将量子点装载在微球内部,还能显著提高量子点的抗漂白性、热稳定性和化学环境稳定性等。在微球表面修饰官能团或者聚电解质等,便于与生物大分子通过化学键偶联或者静电吸附等方式结合,非常适合生物荧光标记方面的应用^[18]。

免疫层析检测技术是上世纪80年代发展起来的第四大固相标记免疫测定技术。相对于同位素标记和酶联免疫法,不仅能够定性而且拥有操作简单、选择性强、灵敏度高、分析速度快、成本低、能实时现场检测等优点^[19]。

1.2 量子点

量子点是指在空间三个维度上都存在量子限域效应的半导体荧光材料,它由 II-VI 族及 III-V 族元素组成,如 II-VI 族的 CdS、CdSe、CdTe、ZnS、ZnSe、HgS、

HgSe 等, III-V 族的 GaAs、AlGaAs、InGaAs、InP 等, 当纳米颗粒半径小于或者接近于波尔半径而载流子受到三维限制, 这些纳米材料的电子结构从连续能级变为准分裂能级^[20,21], 表现为原子簇和体相之间的过渡区状态, 显示出和体相材料完全不同的磁、热、光等基本特性, 产生了表面与界面效应、限域效应、量子隧道效应等基本性质。

1.2.1 量子点的基本性质

1.2.1.1 表面与界面效应

量子点一般由几十到数千个原子组成, 尺寸一般为 1-10 nm, 如图 1-1 所示随着量子点尺寸的变小, 表面的相对原子数快速增加, 比表面积随之迅速增长, 表面能越来越高^[22]。这是量子点不同于体相材料性质的原因之一, 量子点的表面与界面效应对量子点的激发态和高质量量子点的制备有重大的影响。

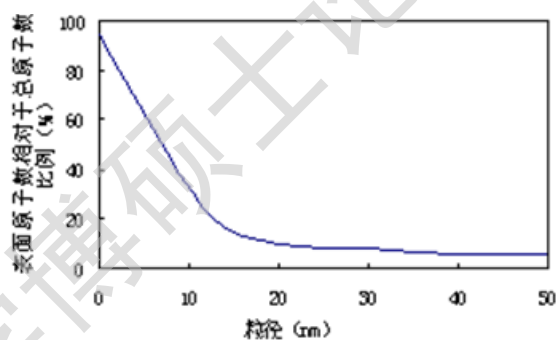


图 1-1 量子点表面原子数随尺寸的变化^[22]

Figure 1-1 Variation of Atomic Number of Quantum Dots with Size^[22]

1.2.1.2 量子限域效应与隧道效应

当量子点的尺寸大下降到某一数值时, 小接近其激子半径波长时, 电子和空穴(载流子)的运动被局限在一个体积非常微小的三维空间, 电子的运动受到限制, 如图 1-2 所示, 量子点的电子能级由连续能级变为分离能级, 存在不连续的最高被占据分子轨道和最低未被占据分子轨道能级, 能隙变宽现象被称为量子限域效应^[23]。隧道效应是基本的量子现象之一。电子作为微观粒子既有粒子性又有波动性, 它在纳米三维空间中运动, 物理线度与电子的平均自由程大小相当, 载流子出现明显电子的波动性, 形成量子隧道效应^[24]。

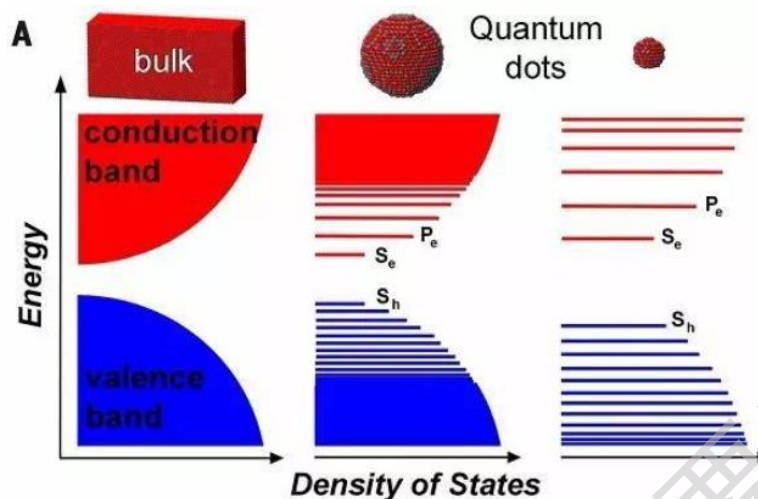


图 1-2 导带、价带能级与量子点的尺寸变化的关系^[23]

Figure 1-2 The relationship between the conduction band, the valence band energy level and the size change of the quantum dots^[23]

1.2.2 量子点的合成

量子点的研究始于 20 世纪 70 年代末，由于光、电、磁等方面的独特性引起了学者们广泛关注。在过去的 30 多年的时间里，人们把注意力集中在光电和生物学应用研究。随着量子点在光电、太阳能、生物成像和检测等领域的深入应用研究，不断改进量子点合成方法、结构和组成来提高量子点的质量和稳定性。按合成方法可分为化学合成方法和物理合成方法，化学合成方法包括金属有机相合成法和无机合成法等^[25,26]；物理合成方法包括超声粉碎法和碾磨法等。按溶剂类型可以分为水相合成法和有机相合成法，但由于水相合成法受到水的低沸点限制，使得水相合成的量子点的一直存在产率不高和粒径分布不均等问题，而有机合成的量子点具有较高的发光效率、尺寸分布和稳定性。

1.2.2.1 单一组成量子点的有机合成

在有机体系中基于有机配体与金属化合物之间的无水无氧反应合成量子点的方法被称为有机相合成法。1989 年，Steigerwald 等人^[27]报道了利用二甲基镉 ($\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$) 与三甲基甲硅烷基硫、三甲基甲硅烷基硒、三甲基甲硅烷基碲为反应底物制备了 CdS、CdSe 和 CdTe 量子点。1993 年，Bawendi 等人^[28]使用 $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$ 和三丁基硒化磷 (TOPSe) 前体分别作为镉源和硒源，以三正辛基氧膦 (TOPO) 作为有机配体，在高温下，将 TOPSe 注入到 $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$ 溶液中，合成了光学性质

较稳的 CdSe 量子点。但是量子产率只有 10% 左右，制备 CdSe 的 $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$ 原料在空气中极不稳定，不仅易爆炸，而且原料的毒性大且价格昂贵，这些不利因素制约高质量量子点的合成。

2001 年, Peng 等人^[29]用绿色环保的金属氧化物替代剧毒的金属有机化合物, 发展了金属氧化物法, 对量子点制备方法进行了革新。他们使用氧化镉 (CdO) 代替了剧毒的烷基金属有机物 $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$ 作为镉源, 使用溶剂 TOPO 和十四烷基磷酸或己基磷酸作为配体, 将上述溶液进行混合加热到 300 °C, 加入 Se、S 或 Te, 成核生长合成 CdSe、CdS 和 CdTe 等纳米晶, 如图 1-3 所示, 获得的量子点尺寸均一, 紫外吸收光谱和荧光光谱。

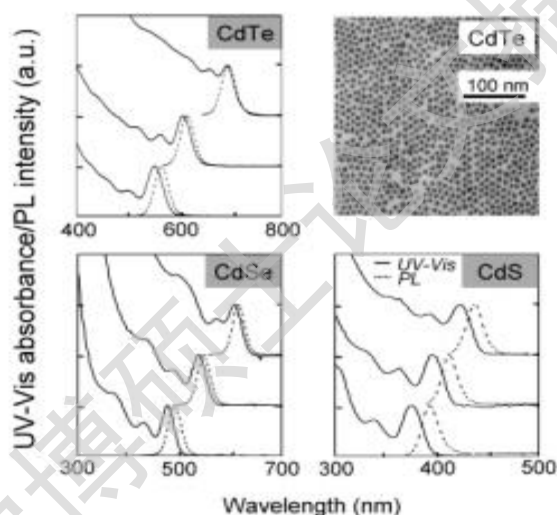


图 1-3 CdTe、CdSe 和 CdS 纳米晶的 UV-Vis 和 PL 光谱, CdTe 纳米晶体的 TEM 图^[29]

Figure 1-3 UV-Vis and PL spectra of CdTe, CdSe and CdS, TEM image of CdTe nanocrystal sample^[29]

在此基础上, Peng 及其他研究组^[30-32]又进一步发展了一些新的合成方法, 使用绿色的非配体性的 1-十八烯 (ODE) 或者长链烷烃作为溶剂, 以油酸、油胺等作为配体, 合成了高质量的 CdS、PbSe、ZnSe、ZnS 等量子点。2013 年, Pu 等人^[33]发展了 Se 悬浊液注射法。如图 1-4 所示, 采用绿色溶剂 ODE 作为配体, 选用硬脂酸镉 ($\text{Cd}(\text{St})_2$) 做为镉源和配体源, 通过 Se-SUS 注射法巧妙的将量子点的成核和生长过程很好的分离, 反应时间延长, 得到的 CdSe 和尺寸均一, 尺寸精确可控, 高的量子产率。经过一系列量子点的研究发展, 得到高量子产率的量子点, 但是, 研究者们发现单一组分的量子点荧光稳定性不好, 单一组成的

量子点的表面存在较多缺陷，缺陷态捕捉电子或空穴，使得荧光稳定性不稳定，因此研究者们探索了提高量子产率和稳定性方法，在量子点的表层再生长另外一种晶格匹配的半导体纳米材料来提高荧光稳定性，这就是核壳量子点。

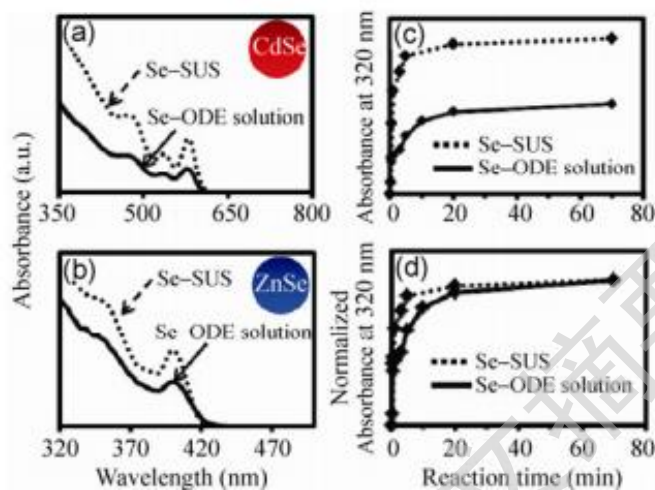


图 1-4 CdSe (a) 和 ZnSe (b) 的 UV-Vis 光谱对比 (c) ZnSe 的 Se-SUS 和 Se-ODE 方法的吸光度对比 (d) 320 nm 处反应时间与吸光度的关系^[33]

Figure 1-4 CdSe (a) and ZnSe (b), (c) the absorbance of the Se-SUS and Se-ODE methods of ZnSe, (d) the relationship between the reaction time at 320 nm and the absorbance^[33]

1.2.2.2 核壳量子点的有机合成

一般量子点的表面存在缺陷态能级，即存在很多悬键，当缺陷能级比激子能级低时可捕获电子或空穴，电子与空穴在缺陷态能级复合将能量以光或热的形式放出，形成淬灭中心。所以一般量子点表面存在很多双键时，它的量子产率往往不高，因此消除表面缺陷是合成高质量量子点至关重要的部分。而在量子点表面生长另一层晶体结构相似的、化学结构更稳的半导体纳米材料，以隔绝量子点的核心部分，如 CdS、ZnS 等保护下钝化核表面，减少表面悬键，同时提供更广地色域范围。

1996 年, Guyot-Sionnest 等人^[34]利用双(三甲基硅基)硫和二甲基锌($\text{Zn}(\text{CH}_3)_2$)制备了 ZnS 包覆 CdSe 的 CdSe/ZnS 核壳量子点, 荧光可以保持数月不淬灭, 量子产率得到提高。1998 年, Alivisatos 和 Peng^[35]合成了以 TOPO 为配体的 CdSe, 用吡啶交换 CdSe 的 TOPO 配体后, 可以在较低的温度下外延生长 CdS 壳层, 有效的抑制高温活化前体分解后成核生长为 CdS 量子点, 通过调控 CdSe/CdS 的尺寸与壳层厚度, 量子产率超过 50%。2001 年, Talapin 等人^[36]使用长链胺配体合

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库